

VERIFIKASI GEN HORMON PERTUMBUHAN LELE DUMBO PADA CALON INDUK HIBRID KETURUNAN PERTAMA LELE MUTIARA TRANSGENIK (*Clarias* sp.)

Tengku Alwie Petra Sya'bani, Ibnu Dwi Buwono, Iskandar dan M. Untung Kurnia Agung
Universitas Padjadjaran

Abstrak

Aplikasi teknologi transgenesis untuk mempercepat pertumbuhan telah berhasil diterapkan pada ikan lele dengan dihasilkannya lele mutiara transgenik yaitu lele yang disisipi gen eksogen berupa gen hormon pertumbuhan (GH) lele dumbo yang saat ini sudah mencapai keturunan pertama. Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi gen GH lele dumbo pada lele mutiara transgenik keturunan pertama. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Basah Hatchery, Laboratorium Bioteknologi Perikanan, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Molekuler FPIK UNPAD. Metode penelitian menggunakan metode eksperimen eksploratif dan dianalisis secara deskriptif. Kegiatan dimulai dari isolasi DNA, amplifikasi, dan elektroforesis untuk mendeteksi GH lele dumbo. Primer Cg-F (5'ATGGCTCGAGTTTGGTGCTGCT-3') dan Cg-R (5'-CTACAGAGTGCAGTTGGAATCCA GGG-3') digunakan untuk mengkopi sekuen gen GH lele dumbo. Ikan uji yang digunakan sebanyak 10 ekor dari 20 ekor F1 MTMNT (hasil persilangan F0 jantan mutiara transgenik dan betina lele mutiara non transgenik), 10 ekor dari 20 ekor F1 MTS (hasil persilangan F0 jantan mutiara transgenik dan betina sangkuriang), dan ikan F1 MNTS (hasil persilangan jantan mutiara non transgenik dan betina sangkuriang) sebagai kontrol. Hasil verifikasi menunjukkan munculnya pita di ikan F1 MTMNT sebanyak 2 pita pada ukuran fragmen 750bp dan 1000bp (ikan 1, 3, 5, 8, dan 10), sebanyak 3 pita pada ukuran fragmen 750bp, 1000bp, dan 1250bp (ikan 2, 4, 6, 7, dan 9). Pada ikan F1 MTS sebanyak 2 pita pada ukuran fragmen 750bp dan 1000bp (ikan 1-5), sebanyak 1 pita pada ukuran fragmen 1000bp (ikan 6-10) sementara pada kontrol tidak terdeteksi pita DNA. Analisis sekuens dengan *software BioEdit* versi 7.1.8 menunjukkan bahwa sekuen GH lele dumbo (600bp) terkandung di dalam sekuen fragmen 750bp, 1000bp, dan 1250bp yang menyatakan bahwa 50% ikan uji F1 MTMNT (10 dari 20 sampel) dan 50% ikan uji F1 MTS (10 dari 20 sampel) teridentifikasi sebagai ikan lele mutiara transgenik.

Kata Kunci : Biometrik , fragmen , lele mutiara, primer, sekuensing , sisipan,.

Abstract

Application of transgenesis technology to accelerate the growth has been successfully applied to the catfish with the production of transgenic mutiara catfish is a catfish inserted exogenous gene in the form of growth hormone gene (GH) dumbo catfish which is now reached the first generation. This study aims to verify the growth hormone dumbo catfish in first generation (F1) transgenic mutiara catfish. The research was conducted at Basah Hatchery Laboratory, Fisheries Biotechnology Laboratory, Microbiology and Molecular Biotechnology Laboratory of FPIK UNPAD. The research method used explorative experimental method and analyzed descriptively. Activity starts from DNA isolation, amplification, and electrophoresis to detect growth hormone dumbo catfish. Primers Cg-F (5'ATGGCTCGAGTTTGGT GCTGCT-3 ') and Cg-R (5'-CTACAGAGTGCAGTTGGAATC CAGGG-3') were used to copy the growth hormone dumbo catfish sequences. The test fish used were 10 of 20 F1 MTMNT fish (result of crosses between F0 male transgenic mutiara and female non transgenic mutiara), 10 of 20 F1 MTS fish (result of crosses between F0 male transgenic mutiara and female sangkuriang), and F1 MNTS fish (result of crosses between male non transgenic mutiara and female sangkuriang) as control. The results of the verification showed the presence of ribbon at fish F1 MTMNT much as 2 ribbon on fragment size 750bp and 1000bp (fish 1, 3, 5, 8, and 10), as many as 3 ribbon on fragment size 750bp, 1000bp and 1250bp (fish 2, 4, 6, 7, and 9). At F1 MTS fish as much as 2 band at 750bp and 1000bp fragment size (1-5 fish), as many as one band at 1000bp fragment size (6-10 fish) while on the control is not detected DNA tape. Sequence analysis with software BioEdit version 7.1.8 shows that sequences of growth hormone dumbo catfish (600bp) contained in sequence fragments 750bp, 1000bp and 1250bp which states that 50% F1 MTMNT fish (10 of 20 sample) and 50% F1 MTS fish (10 of 20 sample) identified as transgenic mutiara catfish.

Keywords : Biometrics, fragment, insertion, mutiara catfish, primers, sequencing.

PENDAHULUAN

Ikan lele (*Clarias* sp) sebagai ikan konsumsi (pecel lele) sering disebut makanan rakyat dan memiliki tingkat permintaan yang tinggi karena rasanya gurih. Kondisi ini memacu pembudidaya ikan memelihara ikan dengan kepadatan tinggi yang dapat menyebabkan ukuran panen lebih kecil. Genetika pertumbuhan lele yang mulai menurun ini, menginisiasi BPPI sebagai lembaga pemuliaan ikan untuk memperbaiki pertumbuhan ikan lele. Pada tahun 2014 BPPI Sukamandi telah membuahkan hasil dari kegiatan pemuliaan tersebut dengan nama ikan lele Mutiara atau ikan lele mutu tinggi tiada tara dan telah diresmikan oleh Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). Lele Mutiara merupakan hibridisasi yaitu persilangan strain ikan lele melalui seleksi individu yang terdiri atas populasi ikan lele paiton, lele dumbo, lele sangkuriang, dan lele mesir (Iswanto dkk 2014). Lele mutiara memiliki pertumbuhan yang relatif cepat hingga 20 - 70% dan *Feed Conversion Ratio* (FCR) sebesar 1,0 dibandingkan dengan ikan lele lainnya. Keunggulan lele mutiara ini membuat masyarakat pembudidaya memiliki minat tinggi terhadap usaha di bidang budidaya lele disebabkan pertumbuhannya cepat dan pembesarannya memakan waktu relatif singkat.

Nilai efisiensi pakan ikan lele Mutiara ini dapat ditingkatkan menjadi FCR 0,75 setelah berhasil diproduksi lele Mutiara transgenik. Ikan lele Mutiara transgenik adalah ikan lele Mutiara yang mengandung sisipan gen GH lele dumbo (Buwono dkk 2016). Gen GH lele dumbo yang disisipkan tersebut akan terekspresi untuk meningkatkan pertumbuhan ikan menjadi lebih cepat dibandingkan ikan lele mutiara non transgenik. Performa lain dari ikan ini memiliki nafsu makan yang tinggi, tidak mudah stress, adaptif terhadap pakan buatan dan pakan segar.

Saat ini lele mutiara transgenik yang telah berhasil dikembangkan meliputi induk (F0) dan keturunan pertama (F1) dan belum diproduksi secara massal. Deteksi diperlukan untuk memastikan apakah gen GH lele dumbo terwarisi pada keturunan berikutnya khususnya pada keturunan F1. Merujuk pada hal tersebut maka perlu dilakukannya

penelitian untuk mendeteksi keberadaan gen GH lele dumbo pada keturunan F1 lele mutiara transgenik dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

WAKTU DAN TEMPAT

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2017 hingga bulan Mei 2017 yang bertempat di Laboratorium Basah Hatchery Gedung 4, Laboratorium Bioteknologi Gedung 4, dan Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Molekuler Gedung 3 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran.

METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen eksploratif yang di analisis secara deskriptif. DNA genom diperoleh dari isolasi DNA (menggunakan *Wizard Genomic Purification Kit*, Promega) yang dilakukan dengan cara mengambil sirip ekor ikan (tanpa membunuh ikan). Amplifikasi gen GH lele dumbo menggunakan primer Cg-F (5'ATGGCTCGAGTTTGGTGCTGCT-3') dan Cg-R (5'-CTACAGAGTGCAGTTGGAATCCAGGG-3') dengan template DNA genom yang telah diperoleh. Primer Cg-F dan Cg-R digunakan untuk mengkopi sekuen GH lele dumbo (Zhang *et al.* 2009).

Ikan yang akan di deteksi secara keseluruhan berjumlah 20 ekor (20 sampel sirip ekor) dari populasi 40 ekor yang terdiri atas 10 ekor dari 20 ekor populasi F1 MTS dan 10 ekor dari 20 ekor populasi F1 MTMNT. Sementara populasi F1 MNTS berjumlah 6 ekor dengan 1 ekor yang diisolasi. Sampel sirip ekor yang telah diambil akan melalui rangkaian kegiatan isolasi DNA genom, elektroforesis DNA genom, proses amplifikasi PCR, elektroforesis hasil PCR dan visualisasinya akan menunjukkan keberadaan sisipan gen GH lele dumbo sebagai penentu ikan transgenik (tersisipi gen eksogen) sehingga jumlah lele transgenik dapat diketahui dari masing-masing populasi. Produk PCR selanjutnya digunakan untuk proses sekuensing guna verifikasi GH lele dumbo dan di analisis dengan *software BioEdit* versi 7.1.8. Secara ringkas dapat dilihat pada Gambar 5. di bawah ini.

Tabel 1. Biometrik Lele Mutiara F1 MTMNT

Ikan ke-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	K
Berat (g)	1000	1000	1320	1240	1040	1200	1060	800	1120	880	560
Panjang (cm)	46	50	55	56	48	53	50	49	53	46	42
Kelamin	♀	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♀	♀	♂/♀
BD (cm)	6	6	7	7,5	6	6	6	6	6	6	4,5
ED (cm)	0,6	0,8	0,7	0,6	0,5	0,7	0,6	0,5	0,6	0,6	0,5
SL (cm)	41	45	50	50	43	47	45	45	48	41,5	37
HL (cm)	9,5	9,5	10	11,5	10	10,5	10	9	8,5	7	8
OPL (cm)	11	11,5	14	12,5	11	12,5	12,5	11	11	9,5	9,5
DL (cm)	27	29	33	34	29	31,5	30	30,5	31	28,5	23,5
HW (cm)	7,5	8	9,5	9,5	8	8,5	9	8,5	9,5	8	6,5
AL (cm)	16	17	21	22,5	16	20	18,5	18,5	17,5	13,5	15,5
PCL (cm)	4,5	5	6	6	5	6	6	5,5	6	5	4,5
PVL (cm)	2	4	5	4,5	4	4,5	4,5	4	4,5	3,5	3,5
CL (cm)	5	5	5	6	5	6	5	4	5	4,5	5

Keterangan :

BD : *Body Depth*
 ED : *Eye Diameter*
 SL : *Standard Length*
 HL : *Head Length*
 OPL : *Opperculum Length*
 DL : *Dorsal Length*

HW : *Head Width*
 AL : *Anal Length*
 PCL : *A Pectoral Length*
 PVL : *Pelvic Length*
 CL : *Caudal Length*
 K : Rata-Rata 6 Ikan Kontrol

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Biometrik

Karakterisasi biometrik digunakan sebagai alat penciri untuk membedakan karakter fenotip tertentu diantara strain dalam suatu spesies yang membentuk karakter spesifik strain tersebut. Lele mutiara yang diuji dalam penelitian ini adalah lele mutiara transgenik keturunan F1 MTMNT (hasil persilangan F0 jantan lele mutiara transgenik dan F0 betina lele mutiara non transgenik) dan lele mutiara transgenik keturunan F1 MTS (hasil persilangan F0 jantan lele mutiara transgenik dan betina lele sangkuriang). Pengukuran biometrik disajikan pada tabel 1, 2, dan 3 di bawah ini. Lele memiliki ciri-ciri umum biometrik yaitu tubuh ikan jantan lebih panjang dari tubuh ikan betina, ikan jantan memiliki alat reproduksi papila yang menonjol sementara ikan betina memiliki bentuk kelamin bulat. 10 ikan MTMNT yang diambil secara acak terdapat ukuran berat yang berbeda-beda dan sebagian besar lebih berat daripada kontrol MNTS (lele kontrol tanpa sisipan gen GH eksogen). Pada ikan 3, 4, dan 6

memiliki berat relatif sama dengan ikan kontrol. Umur ikan baik ikan uji dan ikan kontrol berumur 1 tahun lebih yang mengindikasikan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara ikan jantan dan betina. Ikan jantan lebih berat di banding ikan betina.

Pada 10 ikan MTS memiliki panjang yang beragam dan hampir sama. Mengacu pada lele kontrol MNTS bahwa 10 ikan uji memiliki bobot rata-rata lebih berat dari ikan kontrol. Perbedaan jenis kelamin antar ikan jantan dan ikan betina menentukan panjang dari ikan itu sendiri sebagai salah satu ciri ikan. Ikan jantan cenderung memiliki panjang tubuh lebih panjang dibanding ikan betina.

Berdasarkan Tabel 2. menunjukan bahwa ikan lele mutiara F1 MTS memiliki ukuran yang lebih besar dari kontrol. 10 ikan uji F1 MTS terdiri atas 6 ikan jantan dan 4 ikan betina. Berat tubuh terbesar adalah ikan no. 2 dan no. 4 dengan berat 1280g. Panjang tubuh terbesar ditemukan pada ikan no. 2 (Tabel 2.).

Tabel 2. Biometrik Lele Mutiara F1 MTS

Ikan ke-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	K
Berat (g)	1050	1280	1000	1280	1000	1050	530	1060	560	960	560
Panjang (cm)	52	57	46,5	55	52	55	41	56	43	50	42
Kelamin	♀	♂	♀	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♀	♂/♀
BD (cm)	6	6	6	6,5	5,5	6	5	7	5,5	6	4,5
ED (cm)	0,7	0,8	0,8	0,7	0,7	0,6	0,5	0,6	0,4	0,7	0,5
SL (cm)	48	50	42	49	47	50	37	50	38	44,5	37
HL (cm)	9	10	9	9	9	9,5	7	9	8	9	8
OPL (cm)	12,5	13	11	12	12	12	9,5	13	9,5	11,5	9,5
DL (cm)	27,5	33,5	27	33	30	33	22	33	25	30	23,5
HW (cm)	8	8	7	8,5	7,5	8,5	6,5	9	7	7,5	6,5
AL (cm)	18	21,5	17	20	18	22	15	21	16	18,5	15,5
PCL (cm)	5,5	6	5	6,5	5	5,5	4,5	5,5	5	5,5	4,5
PVL (cm)	3,5	4,5	3,5	4,5	4	4,5	3,5	4,5	3,5	3,5	3,5
CL (cm)	5	7	4,5	6	5	5	4	6	5	5,5	5

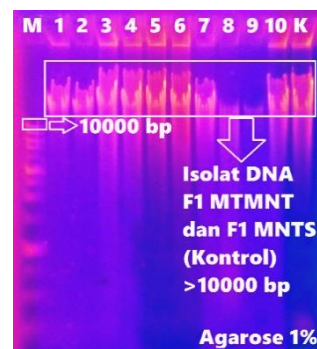
Tabel 3. Biometrik 6 Ikan Kontrol F1 MNTS

Ikan ke-	1	2	3	4	5	6	K
Berat (g)	640	680	680	480	520	360	560
Panjang (cm)	43	45	42	43	39	40	42
Kelamin	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♂/♀
BD (cm)	5	5	6	4	5	4	4,5
ED (cm)	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5
SL (cm)	39	40	37	38	34,5	35	37
HL (cm)	8,5	8	8,5	8	7	8	8
OPL (cm)	10,5	10	10	10	8,5	8,5	9,5
DL (cm)	26	27	24	25,5	18	22,5	23,5
HW (cm)	7,5	7	7	6,5	6,5	5,5	6,5
AL (cm)	15,5	17,5	15,5	17	12,5	15	15,5
PCL (cm)	5	5	5	4	4,5	4	4,5
PVL (cm)	4	3,5	4	3	3,5	3	3,5
CL (cm)	4	5	5	5	4,5	5	5

Secara keseluruhan ikan lele mutiara memiliki berat dan panjang melebihi ikan pembanding (kontrol). Ikan kontrol terdiri atas 6 ikan. Ikan kontrol terdiri atas 6 ikan F1 MNTS yang diukur biometriknya dan kemudian di rata-ratakan antara ke-6 ikan. Hasil pengukuran biometrik di atas (Tabel 1, 2, dan 3.) menunjukkan bahwa rata-rata ukuran ikan lele transgenik (F1 MTMNT dan F1 MTS) lebih berat dibandingkan ikan lele non transgenik (F1 MNTS). Hal ini membuktikan bahwa sisipan GH lele dumbo pada ikan lele transgenik tersebut mampu meningkatkan ukuran ikan seperti yang ditunjukkan dari hasil pengukuran biometrik ikan.

Hasil Isolasi DNA Genom

Hasil isolasi DNA genom ikan uji F1 MTMNT dan kontrol terlihat dari visualisasi gel agarose pada Gambar 1.



Gambar 1. Elektroforesis Hasil Isolasi DNA F1 MTMNT dan Kontrol MNTS

Pada Gambar 1. terlihat bahwa DNA genom sampel terdeteksi dan berada pada ukuran fragmen lebih dari 10000 bp. Ukuran fragmen dapat diketahui dengan adanya *marker* 1 kb DNA *ladder*. *Marker* ini memiliki ukuran fragmen dari paling besar hingga yang terkecil yaitu 10000bp, 8000bp, 6000bp, 5000bp, 4000bp, 3000bp, 2500bp, 2000bp, 1500bp, 1000bp, 750bp, 500bp, 250bp. Keberadaan DNA genom dapat diketahui dari tegasnya pita yang terbentuk (Gambar 1.).

Hasil uji kuantitatif sampel nomor 1-10 secara berurut disajikan dalam Tabel 4. Hubungan antara gambar visual penampakan gel agarose, absorbansi 260 nm (Abs260), dan absorbansi 280 nm (Abs280) dapat dilihat dari tebal dan tegasnya pita yang muncul serta *smear* pada bagian bawah pita.

Hasil pada tabel 4. diatas menunjukkan bahwa nilai absorbansi 260 atau DNA terbaik memiliki nilai 0,258 pada ikan ke 4 sementara nilai terendah adalah 0,074 yaitu pada ikan ke 9. Nilai absorbansi 280 atau kontaminan protein atau fenol terendah adalah 0,048 yaitu ikan ke 9 dan tertinggi pada ikan 4 dengan nilai 0,142. Nilai kemurnian DNA terbaik adalah pada ikan ke 4 dengan nilai 1,817 dan terendah pada ikan ke 9 dengan nilai 1,542. Pada kontrol MNTS memiliki nilai

absorbansi 260 sebesar 0,326 dan absorbansi 280 sebesar 0,177, memiliki nilai kemurnian DNA sebesar 1,842 dan konsentrasi DNA 815 ng/ul. Baik 10 ikan uji F1 MTMNT maupun ikan kontrol MNTS memiliki nilai kemurnian DNA yang cukup layak untuk dilanjutkan pada tahap amplifikasi dengan PCR. Kisaran nilai kemurnian DNA 1,6-1,8 ini dapat digunakan sebagai *template* untuk proses PCR dengan hasil cukup baik (Lathifah 2016).

Hasil isolasi DNA genom pada ikan uji F1 MTS berhasil dengan munculnya pita pada gel agarose 1%. Hasil isolasi DNA genom ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Elektroforesis Hasil Isolasi DNA F1 MTS

Tabel 4. Nilai Absorbansi Keturunan F1 MTMNT dan Kontrol MNTS

Ikan ke-	Abs260	Abs280	Nilai Kemurnian DNA	Nilai Konsentrasi DNA (ng/ul)
1	0,101	0,063	1,603	252,5
2	0,079	0,049	1,612	197,5
3	0,181	0,107	1,692	452,5
4	0,258	0,142	1,817	645
5	0,188	0,109	1,725	470
6	0,194	0,11	1,764	485
7	0,155	0,09	1,722	387,5
8	0,119	0,07	1,700	297,5
9	0,074	0,048	1,542	185
10	0,224	0,13	1,723	560
K	0,326	0,177	1,842	815

Tabel 5. Nilai Absorbansi Keturunan F1 MTS

Ikan ke-	Abs260	Abs280	Nilai Kemurnian DNA	Nilai Konsentrasi DNA (ng/ul)
1	0,161	0,093	1,731	402,5
2	0,199	0,113	1,761	497,5
3	0,126	0,074	1,703	315
4	0,08	0,051	1,569	200
5	0,075	0,046	1,630	187,5
6	0,096	0,06	1,600	240
7	0,074	0,047	1,574	185
8	0,056	0,036	1,556	140
9	0,07	0,044	1,591	175
10	0,098	0,058	1,690	245

Hasil isolasi MTS diatas menunjukkan bahwa DNA berhasil diekstraksi dari sirip ikan. DNA yang tervisualisasi dari 10 ikan MTS berada pada ukuran fragmen lebih dari 10000 bp. Uji kuantitatif ikan F1 MTS dengan alat Spektrofotometer disajikan pada tabel 5. dibawah ini.

Pada nilai absorbansi 260, sampel ikan nomor 1, 2, dan 3 menempati nilai abs260 lebih tinggi dari sampel lainnya. Hal ini disebabkan dari jumlah sampel sirip yang di ambil dan ketelitian peneliti dalam melakukan ekstraksi DNA. Banyaknya sampel sirip yang diambil akan menentukan berapa banyak DNA yang terekstraksi. Jumlah DNA yang direpresentasikan melalui nilai abs260 berkorelasi positif dengan nilai konsentrasi DNA. Semakin besar nilai abs260 semakin besar nilai konsentrasi DNA.

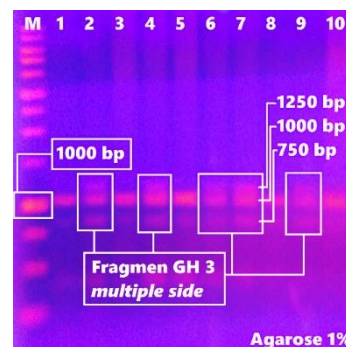
Pada nilai absorbansi 280 atau jumlah kontaminan protein. Sampel 1, 2, dan 3 juga menempati urutan terbesar dari sampel lainnya. Nilai abs280 ditentukan dari ketelitian peneliti dalam ekstraksi terutama saat pemindahan supernatan ke *tube* baru setelah sentrifugasi. Saat proses tersebut supernatan mengandung DNA sementara natan yang mengendap adalah kontaminan protein. Hal lainnya yang akan mempengaruhi besarnya nilai absorbansi 280 adalah sterilitas alat mulai dari saat pengambilan sampel yaitu gunting, pinset, dan pengenaan sarung tangan steril. Kemudian *microtube* harus steril, tippipet harus diganti setiap pergantian sampel, pengenaan masker untuk menghindari kontaminasi dari mulut, dan meja kerja yang steril. Sarung tangan dan meja kerja harus di semprot dengan alkohol sebelum pengerjaan. Hindari barang lain di meja kerja untuk menghindari kontaminasi silang.

Uji kualitatif (gel agarose) dan uji kuantitatif (spektrofotometer) saling berkorelasi. Jika kemurnian DNA terlihat dari angka pada spektrofotometer maka pada gel agarose akan terlihat pita DNA dan *smear*. Pada umumnya kemurnian DNA diantara 1,8-2,0 akan menyajikan penampakan di gel agarose dengan pita DNA tanpa *smear*. DNA tertangkap oleh panjang gelombang 260 nm sementara kontaminan berupa protein dan fenol tertangkap oleh panjang gelombang 280 nm. Nilai DNA tertinggi terdapat pada ikan ke 2 dengan nilai 0,199 dan yang terendah ikan ke-8 dengan nilai 0,056. Kontaminan terkecil

terdapat pada ikan ke 9 dengan nilai 0,044 dan kontaminan terbesar pada ikan ke 2 dengan nilai 0,113. Kontaminan yang besar tidak selalu buruk karena tergantung nilai DNA yang dimiliki maka hasil Abs260 per Abs280 haruslah diantara 1,8-2,0 untuk dapat dikatakan nilai kemurnian DNA yang sangat baik. Pada hasil nilai kemurnian DNA, diperoleh nilai kemurnian DNA tertinggi terdapat pada ikan ke 2 dengan nilai 1,761 sementara nilai kemurnian DNA terkecil pada ikan ke 8 dengan nilai 0,556. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan bahwa DNA dengan nilai kemurnian DNA <1,5 sulit di amplifikasi dan tidak jarang terjadi kegagalan. Pada hasil pengukuran spektrofotometer dan penampakan gel agarose, semua sampel memiliki nilai lebih dari 1,5 dan dapat disimpulkan bahwa semua sampel dapat dikatakan cukup layak untuk dilanjutkan ke tahap amplifikasi dengan PCR (Lathifah 2016).

Hasil Amplifikasi PCR

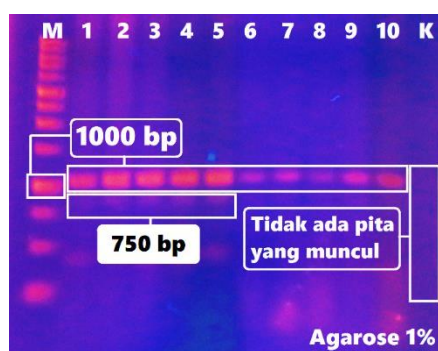
Proses PCR melibatkan 5 bahan campuran reaksi dan suhu serta waktu inkubasi yang berbeda-beda saat proses PCR. Hasil PCR akan dilakukan serangkaian proses elektroforesis hingga visualisasi dengan UV *Transilluminator*. Hasil visualisasi dengan gel agarose dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Elektroforesis Hasil PCR Lele Mutiara F1 MTMNT

Pada gambar diatas (Gambar 3.) dapat dilihat bahwa ikan MTMNT memiliki 2 pita di ukuran fragmen 1000bp dan 750bp pada ikan 1, 3, 5, 8, dan 10. Pada ikan ke-2, ke-4, ke-6, ke-7, dan ke-9 memiliki 3 pita di ukuran fragmen 1250 bp, 1000 bp, dan 750 bp. Primer yang digunakan adalah primer Cg-F dan Cg-R yang dirancang khusus untuk mendeteksi gen GH lele dumbo yang terdapat dari lele

mutiara. Sehingga pita DNA yang muncul adalah representasi visual dari GH lele dumbo yang terdeteksi di ikan uji. Kualitas PCR ditentukan dari ketelitian saat campuran reaksi PCR dilakukan. Saat pencampuran, pergantian tippipet mutlak dilakukan karena banyak bahan yang digunakan. Kualitas PCR juga ditentukan dari hasil isolasi DNA genom (Gambar 1.). Hasil isolasi tergolong baik sehingga pita yang dihasilkan saat PCR terlihat tebal (Gambar 3.). Nilai kemurnian juga tergolong baik dengan nilai kontaminan abs280 yang tergolong kecil (Tabel 4.). Hasil amplifikasi PCR pada ikan uji F1 MTS ditunjukkan pada Gambar 4. dibawah ini.



Gambar 4. Elektroforesis Hasil PCR Lele Mutiara F1 MTS dan Kontrol MNTS

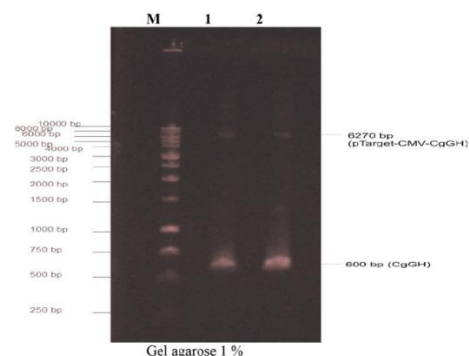
Pada visualisasi gel agarose F1 MTS dan kontrol MNTS terlihat pita muncul pada ukuran fragmen 750 bp dan 1000 bp. Ikan 1 sampai 5 memiliki 2 pita di 750p dan 1000bp. Ikan 6-10 memiliki 1 pita di 1000bp. Sementara kontrol tidak terlihat munculnya pita baik pada ukuran fragmen 750 bp, 1000 bp dan lainnya. Hal ini menandakan bahwa ikan uji yang memiliki 2 pita telah terjadi *multiple copy* sementara ikan uji yang memiliki 1 ukuran fragmen adalah *single copy*. Ikan kontrol tidak menampilkan munculnya pita disebabkan tidak adanya penempelan yang terjadi pada primer. Primer Cg-F dan Cg-R dirancang khusus untuk mendeteksi sisipan gen GH lele dumbo. Hal ini menyatakan bahwa ikan kontrol tidak memiliki sisipan gen GH lele dumbo.

Hasil PCR menunjukkan perbedaan ketebalan pada masing-masing pita. Ketebalan pita hasil PCR sebagian besar tergantung dari hasil isolasi DNA sebelumnya (Gambar 2.). Terlihat bahwa pita nomor 6-10 terlihat tipis

dibandingkan dengan nomor 1-5. Hal tersebut akan mempengaruhi ketebalan pita hasil PCR. Semakin tebal pita pada hasil isolasi DNA semakin tebal pula pada hasil PCR. Hasil isolasi DNA juga terlihat memiliki banyak *smear* pada bagian bawah gel (Gambar 2.). Hal tersebut juga mempengaruhi kepada hasil PCR, terlihat bahwa adanya sedikit *smear* pada bagian akhir PCR. Adanya smear pada isolat DNA genom dapat menghambat proses amplifikasi (PCR) (Fatchiyah *et al.* 2010).

Hasil Sekuensing

Sekuensing atau pengurutan ini merupakan langkah untuk mengetahui urutan basa nukleotida yang telah dikopi oleh primer Cg-F dan Cg-R. DNA yang disekuensing adalah pita yang tervisualisasi melalui gel agarose dan berada pada ukuran fragmen 750bp, 1000 bp, dan 1250bp. Ketiga hasil sekuensing ini, masing-masing akan dilakukan *alignment* dengan sekuen gen GH lele dumbo yang memiliki ukuran fragmen 600 bp (Gambar 5.).



Gambar 5. Pita Fragmen 600 bp (GH Lele Dumbo sebagai GH Eksogen)

Sumber : Buwono dkk 2016

Pengejajaran Fragmen 750bp dan 600bp

Pita pada ukuran fragmen 750bp (Gambar. 3 dan Gambar 4.) dan 600bp (Gambar 5.) dilakukan penyejajaran antara sekuennya dengan masing-masing sekuen forward 750bp-sekuen forward 600bp dan sekuen reverse 750bp-sekuen reverse 600bp. Sekuen forward 750bp memiliki 700 basa nukleotida dan sekuen forward 600bp memiliki 574 basa nukleotida. Selisih antara keduanya adalah 126 basa nukleotida. Sekuen 750bp forward dilakukan *alignment* dengan sekuen 600bp forward. Penyejajaran terlihat

mulai dari ukuran 174bp hingga 732bp. Penyejajaran dari 174bp hingga 576bp menunjukkan penyejajaran putus-putus dan penyejajaran dari 583bp hingga 730bp menunjukkan penyejajaran bersambung. Penyejajaran putus-putus menandakan bahwa tidak semua urutan nukleotida dimiliki antara kedua sekuen dan penyejajaran bersambung menandakan bahwa seluruh urutan nukleotida dimiliki antara kedua sekuen. Pada penyejajaran di ukuran 719bp hingga 861bp tidak terlihat basa nukleotida dari sekuen 600bp dimiliki sekuen 750bp.

Pada penyejajaran ditemukan ada 363 dari 574 basa nukleotida 600bp yang ada di 750bp. Nilai *similarities* (sim) sebesar 63,24% yang menandakan bahwa sekuen gen GH lele dumbo tidak tersisipi keseluruhan di fragmen 750bp dan mungkin tidak diekspresikan. Sementara nilai *similarities* (sim) sebesar 61,49%. Berarti ada 61,49% sekuen gen GH lele dumbo yang berada pada sekuen 750bp. Ikan F1 MTMNT yang memiliki sekuen 750bp ini terdiri atas ikan sampel 1-10 (Gambar 3.) dan ikan F1 MTS yang memiliki sekuen 750bp terdiri atas ikan sampel 1-5 (Gambar 4.).

after alignment

750bp LMF	CCAGGGAGCG	AACAGCTGAG	CAGATCTTCC	CCCTGTCAAT	CTGCAACTCG	GACTCTATCG	AGGCTCCGGC	AGGCAAGGAC	GAGACCCAGA	AAAGCTCCGT	sim
600bp LDF	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0
750bp LMF	AAGTCACAAA	GCTGTATTCA	TTAACAATAA	ATAATGAAGC	TTGCTCAATG	TACTATATAC	TGTACATCAG	TAAATC-AAT	ATAACTCTTT	-TCATG-GCC	sim
600bp LDF	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	16
750bp LMF	ATAACTGTTA	---AGTTGT	TTGTCCAAAG	GTGCTGAAC	TGCTGCACA	CATCTT-ATC	GTCT-GAT	CGAG-TCATG	G-GAGTTC	CCAGCAAGAA	sim
600bp LDF	ACATTGTAGA	CCCAGCGGCT	CTTCAACAAC	GCGTCTATCG	GTG-TGCA-A	CACCTTCACC	AACTGGCTGC	CAAGATGATG	GATGACTT	---TG-AAGAA	54
750bp LMF	CTTGGGCAAC	C---CTAAC	CATATCTCTG	A-AAAGCTGG	CTGACCTGAA	AATGGGC-A	TCGGTGTGCT	TATTGAGGTG	AGCAGGAGAG	CAACGGATGA	sim
600bp LDF	GCTTTTGTAC	CTGAAGAAGC	CAACAGAGCTG	AGCAAGATCT	TCCCTCTGTC	ATTCTGCAC	TCGGACT-C	TATCGAGG-C	TCCGGCAG-G	CAA-GGACGA	55
750bp LMF	GTAACTGAT	GTAGTCT	GTCTG-TAC	GCAATAGA	ATGTAATGTG	EGTTTATTTA	CATCAATAAT	GAAGATCTCG	TGC---TATC	T---CCATCAG	sim
600bp LDF	G--AC-CCA	AAAAGCTCC	GTGCTGAAGC	TGCTGCACAC	ATCTTAT-CG	TCTG-ATCGA	-GTC-AT-G	GGAGTTCCCC	AGCAAGAACC	TGGGCAACCC	50
750bp LMF	ATATGATTGT	TTTAAATGAA	TGTGCCATCG	ATTATTTCCT	GATAACTGCA	GGTCTGTGTT	GATTCTTAC	TTTGGTCCA	ATAGGGATGT	GTGGATGGAC	sim
600bp LDF	TAACCATATC	CTGAA-AA	---G-C-TGG	CTGA---CCT	GA-AAATGGG	C-ATCGGTGT	G---CTTA	---TT-G	---AGGATGT	GTGGATGGAC	57
750bp LMF	AAACCAGCCT	GGACGAGAAT	GACGCATTTC	CTCCGCCCTT	CGAGGATTTC	TACCAGACCC	TGAGCGAGGG	GAACCTGAGG	AAGAGCTTCC	GTCTGCTGTC	sim
600bp LDF	AAACCAGCCT	GGACGAGAAT	GACGCATTTC	CTCCGCCCTT	CGAGGATTTC	TACCAGACCC	TGAGCGAGGG	GAACCTGAGG	AAGAGCTTCC	GTCTGCTGTC	100
750bp LMF	TTGCTTCAAG	AAAGACATCG	ACAAAGTGGG	A	-----	-----	-----	-----	-----	-----	sim
600bp LDF	TGCTTCAAG	AAAGACATCG	ACAAAGTGGG	GACTTATCTC	AGCGTGGCCA	AGTGCAGGAG	ATCCCTGGAT	TCCAACCTCA	CTCTGTAGAG	NAGCA	31

Keterangan :

LMF : Lele Mutiara *Forward*

LDF : Lele Dumbo *Forward*

Jumlah Basa LMF : 700

Jumlah Basa LDF : 574

Similarities (sim) : 363 (63,24%)

after alignment

750bp LMR	GGGGAATCCG	AGGGAGCTCT	TCTCAGTTCC	CTCGCTCAGG	GTCTGGTAGA	AATCCTCTGAA	GGGCGGAGCA	AATGCGTCAT	TCTCGTCCAG	GCTGGTTTGT	sim	
600bp LDR	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0	
750bp LMR	CCATCCACAC	ATCCCTATTG	GACCCAAAGT	AGAAATCAA	ACAGAGCTGG	CGGTATATAG	---GAAATAAT	CGATGGCACA	TTCATTTAAA	CAAAATATAT	sim	
600bp LDR	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	27	
750bp LMR	C-TGATGAG	ATAGC-AC	G-AGATCTTC	AT-TA-TTGA	TGTAATATA	CACACATTAC	ATTCTATTGC	GTACAACACA	GCACTACATG	CAGT---TACT	sim	
600bp LDR	CTTAGCAGAG	ACAGCAGAGG	GAAGCTCTTC	CTCAAGTCCC	CCTCGCTCAG	GGTCTGGTAG	A-AATCCT-C	GAAGGGGGGA	GCA--A-ATG	C-GTCAATTCT	50	
750bp LMR	CAT-C---C	-G-TTGCTG	TCCTGCTCA	-CCTCAATAA	GCACACCGAT	GCCCATTTTC	AGGTCAGCCA	GCTTTTCAGA	GATATGGTTA	GGGTGCCCCA	sim	
600bp LDR	CGTCCAGGCT	GGTTTGTCCA	TCC-ACACAT	COCTCAATAA	GCACACCGAT	GCCCATTTTC	AGGTCAGCCA	GCTTTTCAGA	GATATGGTTA	GGGTGCCCCA	84	
750bp LMR	GGTTCTTGCT	GGGGAACCTC	CATGACTCGA	TCAGAGGATA	AGATGTGTGC	AGCAGTTTCA	GCACCTTGGA	CAAAACAAAC	TTAACAGTTA	TGGCCATGAA	sim	
600bp LDR	GGTTCTTGCT	GGGG-----	A-ACTC	C-C	A-TG-A	A-G-T	C-G	A-T-CAG	A-A	C-----	36	
750bp LMR	AAGAGTTATA	TGACTTACT	GATGTACAGT	ATATAGTACA	TTGAGCAAGC	TTTATTATTT	ATTGTTAATG	AATACAGCTT	TGTGACTTAC	GGAGCTTTTC	sim	
600bp LDR	---G---A	T-A-A	GA-T-G	T-G	T-GC-AG	-C	A-G-T-T	T-CA	---G-C	---AC	GGAGCTTTTC	38
750bp LMR	TGGGTCTCGT	CCTTGCCTGC	CGGAGCCTCG	ATAGAGTCCG	AGTTGCAGAA	TGACAGGGGG	AAGATCTTGC	TCAGCTGTTT	CGCTTCTTCA	GGTAAACAAG	sim	
600bp LDR	TGGGTCTCGT	CCTTGCCTGC	CGGAGCCTCG	ATAGAGTCCG	AGTTGCAGAA	TGACAGGGGG	AAGATCTTGC	TCAGCTGTTT	CGCTTCTTCA	GGTAAACAAG	100	
750bp LMR	CTTCTTCAAA	GTCAATCCAGG	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	sim	
600bp LDR	CTTCTTCAAA	GTCAATCCATC	ATCTTGGCAG	CCAGTTGTGTG	AAGGTGTGTG	ACACGGATGA	CCGCGTGTGT	GAAGAGCCCG	TGGGTCTCAA	ATGTGCGGCC	18	
750bp LMR	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	sim	
600bp LDR	TTGATTAAAG	AACAGACTCG	CCACCACCAC	AGAGAGCAGC	ACCAAACTC	GAGCCATAAA	A	-----	-----	-----	0	

Keterangan :

LMR : Lele Mutiara *Reverse*

LDR : Lele Dumbo *Reverse*

Jumlah Basa LMR : 699

Jumlah Basa LDR : 574

Similarities (sim) : 353 (61,49%)

Pengejajaran Fragmen 1000bp dan 600bp

Penyejajaran yang dilakukan antara sekuen 1000bp forward dengan 600bp forward menghasilkan nilai *similarities* sebesar 98,43%. Sekuen gen GH lele dumbo ada pada sekuen 1000bp sebanyak 565 dari 574 basa nukleotida, hanya 9 basa nukleotida yang tidak ada. Angka yang besar untuk dikatakan tersisipnya gen GH lele dumbo secara keseluruhan pada sekuen 1000bp forward. Kemudian penyejajaran yang dilakukan antara sekuen 1000bp reverse dengan 600bp reverse menghasilkan nilai *similarities* sebesar 97,21%. Hanya 16 basa nukleotida yang tidak ada pada sekuen 1000bp. Nilai *similarities* menandakan bahwa adanya sisipan gen GH lele dumbo pada sekuen 1000bp.

Pada penyejajaran forward dan reverse terlihat bahwa adanya sekuen yang bersambung dan putus-putus. Pada penyejajaran reverse terlihat penyejajaran sekuen yang bersambung dari penyejajaran ukuran 11bp hingga 132bp, 371bp hingga

453bp, 628bp hingga 703bp, dan 868bp hingga 916bp. Adanya sekuen yang bersambung dan putus-putus disebabkan oleh sekuen 1000bp adalah DNA yang belum mengalami *splicing* dan sekuen 600bp adalah RNA yang telah mengalami *splicing*. Pemotongan daerah intron pada DNA menyebabkan ekson akan bergabung yang disebut *splicing* RNA dalam peristiwa transkripsi. Ekson dan intron adalah bagian dari DNA. Proses transkripsi adalah salah satu proses menterjemahkan DNA menjadi RNA atau singkatnya dalam proses pembentukan protein harus melalui rangkaian proses DNA-transkripsi-RNA-translasi-protein. Translasi adalah proses menterjemahkan RNA menjadi protein. Hal tersebut yang menyebabkan ketika RNA disejajarkan dengan DNA akan membentuk kesejajaran bersambung dan putus-putus. Ikan yang memiliki pita fragmen di 1000bp adalah 10 ikan uji F1 MTMNT (Gambar 3.) dan 10 ikan uji F1 MTS (Gambar 4.).

after alignment

1000bp LMF	GACGTGGGTT	GGCG-STCTG	TTCTTTATCA	GGCGGACAT	TTGAGACCCA	GGCGCTCTTC	AACAACGCGG	TCATCCGTGT	GCAACACCTT	CACCAACTGG	sim
600bp LDF	-----G	GGCGAGTCTG	TTCTTTATCA	GGCGGACAT	TTGAGACCCA	GGCGCTCTTC	AACAACGCGG	TCATCCGTGT	GCAACACCTT	---C-A---	81
1000bp LMF	CTCCAAAGAT	GATGGAGTAC	TTGTAAAGCT	TGCTTACAGT	TGATTTAAGC	CTGGTTTACA	CTACAGTAG	GAAACGTGTT	AGCTTTAAGC	TTTAAGTTTG	sim
600bp LDF	-----C	-----G	-----AA	-----G	-----TG	-----CT-G	-----C-C	-----AA	-----G	-----A-TG	22
1000bp LMF	TTGATTTCAC	TAGCTGAATC	TTGTGTTGTG	TGCAAAATCT	AAAAGGAAGA	AGCTTTGTTA	CCTGAAGAAC	GCAACACAGT	GAGCAAGATC	TTCCCCCTGT	sim
600bp LDF	-----G	-----A-TG-A-C	-----T	-----T-T	-----GAAGA	AGCTTTGTTA	CCTGAAGAAC	GCAACACAGT	GAGCAAGATC	TTCCCCCTGT	64
1000bp LMF	CATTCTGCAR	CTCGGACTCT	ATCGAGGCTC	CGGCAGGCAT	GGACGAGACC	CAGAAAAGCT	CCGTAAGTCA	CAGAGCTGTA	TTCAATTAACA	ATAAATAATG	sim
600bp LDF	CATTCTGCAR	CTCGGACTCT	ATCGAGGCTC	-----G	-----CG-G	-----A	-----G	-----G-AA	-----G	-----G	42
1000bp LMF	AAGCTTGCTC	AATGACTAT	ATACTGTACA	TAGTAAGTCA	AATATACTC	TTTCATGGC	CATAAGTGT	AAGTTTGT	TGTCCAAGT	GCTGAAACTG	sim
600bp LDF	-----A-C-G	-----A-G	-----AC	-----C	-----AG	-----A-AA	-----A-G	-----C	-----TCC	-----GT	32
1000bp LMF	CTGCACACAT	CTTATCGTCT	GATCGAGTCA	TGGGAGTTCC	CCAGCAAGAA	CTGGGCAAC	CCTAACATA	TCTCTGAAA	GCTGGCTGAC	CTGAAATGG	sim
600bp LDF	CTGCACACAT	CTTATCGTCT	GATCGAGTCA	TGGGAGTTCC	CCAGCAAGAA	CTGGGCAAC	CCTAACATA	TCTCTGAAA	GCTGGCTGAC	CTGAAATGG	51
1000bp LMF	GCATCGGTGT	GCTTATTGAG	GTGAGCAGGA	GAGCAACGGA	TGAGTAAGT	CATGTAGTGC	TGTGTTGTAC	GCAATAGAT	GTAAATGTGT	TTTATTTACA	sim
600bp LDF	-----C-T-G-G	-----GC	-----A	-----A-G	-----TAAG	-----CA-TA-T-C	-----T	-----C-T-GAA	-----AA	-----G	30
1000bp LMF	TCAATAATGA	AGATCTCCTG	CTATCTCCAT	CAGATATGAT	TTGTTTAAAT	GAATGTGCCA	TGATTATTT	CCTGATAACC	GCACGTTCTG	TTGATTTC	sim
600bp LDF	-----C	-----TG	-----G	-----C-TG	-----A	-----TG-AA	-----AATG-G	-----C-AT	-----G-G-TG	-----TG-CT	32
1000bp LMF	TACTTTGGGT	CCAATAGGGA	TGTGTGGATG	GACAAACAG	CCTGGACGAG	AATGACGCAT	TTGCTCCGCC	CTTCGAGGAT	TTCTACCAGA	CCCTGAGCGA	sim
600bp LDF	TA-TT-G	-----AGGGA	TGTGTGGATG	GACAAACAG	CCTGGACGAG	AATGACGCAT	TTGCTCCGCC	CTTCGAGGAT	TTCTACCAGA	CCCTGAGCGA	90
1000bp LMF	GGGGAAGTTC	AGGAAG-AGC	TTCCGTCCTG	TGCTCTTGCTT	CAAGAAAGAG	ATGCACAAAG	TGGAGACTTA	TCTCAGCGTG	GGCCAAGTGC	AGAAAATCC	sim
600bp LDF	GGGGAAGTTC	AGGAAG-AGC	TTCCGTCCTG	TGCTCTTGCTT	CAAGAAAGAG	ATGCACAAAG	TGGAGACTTA	TCTCAGCGTG	GGCCAAGTGC	AG-GAGATCC	95
1000bp LMF	CTGGGATTCC	AACTGCCCTT	CGGTAGAGNA	GTCCCCCAAA	CTTCTGGGGC	CTAAAACT					sim
600bp LDF	CT-SGATTCC	AACTG-CACT	CTGTAGAGNA	G-CA							26

Keterangan :

Jumlah Basa LMF : 1058
 Jumlah Basa LDF : 574
Similarities (sim) : 565 (98,43%)

31

after alignment

```

1250bp LMR      CCAGAGAGGG  CTTCGGCGCG  GAGAT  AGT  TCCACTTTTC  GATATCTTTT  CTGAGAGCA  GACAGAGAG  GAGAGCTCTT  CCTGAGATTC  CCTCGGCTCA  sim2
600bp LDR      ---ACGGG  CTTCGGCGCG  GAGATAAGT  TCCACTTTTC  GATATCTTTT  CTGAGAGCA  GACAGAGAG  GAGAGCTCTT  CCTGAGATTC  CCTCGGCTCA  93

1250bp LMR      GGGCTGTGTA  GAAATCCTCG  AAGGGCGGAG  CAATGCGGT  ATTCTGCTCG  AGGCTGCTTC  GTTCATCCAG  ACATCCCTAT  TGGGCCAAA  CTAGAAATC  sim0
600bp LDR      GGGCTGTGTA  GAAATCCTCG  AAGGGCGGAG  CAATGCGGT  ATTCTGCTCG  AGGCTGCTTC  GTTCATCCAG  ACATCCCTAT  TGGGCCAAA  CTAGAAATC  86

1250bp LMR      AATCAGACA  TG  CGCTAA  CGGGAATAA  TCCATGCGAG  ATTCAATTAA  ACAATCATA  TCTGATGAG  ATAGAGAG  ATCTACATTA  TTGATGTAA  sim21
600bp LDR      AATCAGACA  TG  CGCTAA  CGGGAATAA  TCCATGCGAG  ATTCAATTAA  ACAATCATA  TCTGATGAG  ATAGAGAG  ATCTACATTA  TTGATGTAA  49

1250bp LMR      TACAGACAA  TACATCTTA  TCCGATAG  A  ACAGCGGAG  ACATGCGGT  ACATG  TG  TCTGCTCG  G  TACAGAG  AAGAGGACA  CCGATGCTCA  sim35
600bp LDR      GAACTGCA  TGAG  TCGA  T  CAGAGCA  TACATGCTG  CCA  GCGAGT  TCGAGAG  GAGCTTTTC  GCTCTGCTG  CTT  GCTCG  CCGAGGCTC  56

1250bp LMR      TTTCGAGTG  AGCAGCTTC  TACAGATAT  GATAGGGTT  GCGCGGCTTC  TTGCTGGGGA  ACTCCCATGA  CTGATCAGA  CGA  TAGAG  CTGCTGAGCA  sim31
600bp LDR      GAGAGA  GTC  GAG  TG  G  AGA  AG  GACAGGG  G  GAGAG  TTGCT  CA  GCT  GTTTC  GCTCTCAGG  TACAGAGCT  CTCTCA  AA  50

1250bp LMR      GT  TTGAG  ACTTGAGCA  AATCAACT  TACAGATTAT  ATTGACTTAT  TGAATGAG  TATATAGTAC  ATTGAGCAAG  CTCTATTAT  TATGATGTT  sim31
600bp LDR      GTCAGATG  ATCTTGG  S  AGCAGTTGG  TCA  AG  G  GCTG  GACAG  GAGAT  AGCT  T  GCTG  A  AGAG  CG  C  GGGG  CG  CA  AAG  S  53

1250bp LMR      GGAATTTGG  GCTTTTCTG  CAAGCGTG  GACAGCGG  CTA  TTGAG  TTCA  CACA  ACTGCGGATA  GATTATAAG  TTCTGGAGCG  AACCTCCCA  sim28
600bp LDR      G  GCT  CTGATTAA  GACAGACT  GC  GA  GC  A  GACAGAGAG  GAGAGCAAA  AC  S  G  A  G  C  CATAAAA  39

1250bp LMR      TTTATCTCG  GATTATTGTA  TACATATA  TTAATGCA  GGTATTTT  TTACAGATCA  GCTTTGAG  TTACGGAGCT  TTCTGGGAG  TCTCTCTTC
600bp LDR      TTTATCTCG  GATTATTGTA  TACATATA  TTAATGCA  GGTATTTT  TTACAGATCA  GCTTTGAG  TTACGGAGCT  TTCTGGGAG  TCTCTCTTC

1250bp LMR      CTGCGGAGC  CTGATAGAG  TCCGAGTTC  AGAATGACAG  GGGGAGATC  TTGCTCAGCT  GATTCGATC  TTGAGTAC  AAGCTTCTT  CCTTTATGAT
600bp LDR      CTGCGGAGC  CTGATAGAG  TCCGAGTTC  AGAATGACAG  GGGGAGATC  TTGCTCAGCT  GATTCGATC  TTGAGTAC  AAGCTTCTT  CCTTTATGAT

1250bp LMR      TTGACACACA  ACACGAGAT  CAGCTAGTG  AAACACCAA  ACTTAAAGC  TTAAGCTAA  CAGATTTC  TACCTAGGT  GAAACACAG  CTAAATCAA
600bp LDR      TTGACACACA  ACACGAGAT  CAGCTAGTG  AAACACCAA  ACTTAAAGC  TTAAGCTAA  CAGATTTC  TACCTAGGT  GAAACACAG  CTAAATCAA

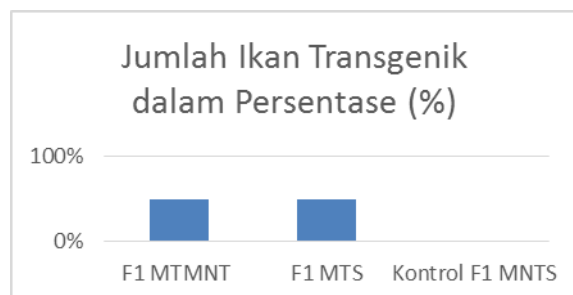
1250bp LMR      TCTGAGGCA  GCTTACAAAT  TCTTCATCA  ATATTGAG  TCAAG
600bp LDR      TCTGAGGCA  GCTTACAAAT  TCTTCATCA  ATATTGAG  TCAAG

```

Keterangan :

Jumlah basa LMR : 1033
 Jumlah basa LDR : 574
 Similarities (sim) : 426 (74,21%)

Hasil sekuensing antara 3 pita yang tervisualisasi (750bp, 1000bp, 1250bp) diolah dengan *software BioEdit* versi 7.1.8 dan dilakukan *alignment* pada masing-masing pita dengan sekuen GH lele dumbo. Hasil menunjukkan sekuen dari pita fragmen 750bp memiliki sisipan gen GH lele dumbo dengan nilai *similarities* sebesar 63,24% pada sekuen forward dan 61,49% pada sekuen reverse. Sekuen dari pita fragmen 1000bp memiliki sisipan gen GH lele dumbo dengan nilai *similarities* sebesar 98,43% pada sekuen forward dan 97,21% pada sekuen reverse. Sekuen dari pita fragmen 1250bp memiliki sisipan gen GH lele dumbo dengan nilai *similarities* sebesar 72,82% pada sekuen forward dan 74,21% pada sekuen reverse. Jumlah lele mutiara transgenik F1 MTMNT yang terdeteksi sebanyak 10 ekor dari 20 sampel uji (50%) dan jumlah lele mutiara transgenik F1 MTS yang terdeteksi sebanyak 10 ekor dari 20 sampel uji (50%) sementara kontrol tidak ada. Jumlah ikan lele mutiara transgenik disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Jumlah Lele Mutiara Transgenik F1 MTMNT, F1 MTS, dan Kontrol F1 MNTS

Pita fragmen 750bp, 1000bp, dan 1250bp, ketiganya memiliki sisipan gen GH lele dumbo atau sisipan gen eksogen dengan nilai *similarities* yang berbeda-beda. Nilai *similarities* tertinggi diperoleh pita pada ukuran fragmen 1000bp, disusul dengan pita pada ukuran fragmen 1250bp dan 750bp. Pita yang diharapkan muncul adalah tiga pita pada satu sampel ikan uji dan ketiga pita tersebut muncul bersamaan pada sampel DNA ikan uji F1 MTMNT nomor 2, 4, 6, 7, dan 9.

Korelasi Berat dan Jumlah Pita

Terjadinya *junction sequence* menyebabkan munculnya pita *multiple site* atau *multiple copy* di 3 daerah yang berbeda sehingga menciptakan urutan nukleotida baru dengan panjang *base pair* sebesar 1250bp, 1000bp, dan 750bp. Ikan uji F1 MTMNT yang memiliki 3 pita adalah sampel nomor 2, 4, 6, 7, dan 9. Kelima ikan memiliki berat secara berurutan 1000g, 1240g, 1200g, 1060g, dan 1120g (Tabel 6.). Terjadinya 3 *multiple site* memungkinkan ikan tersebut untuk memacu pertumbuhannya lebih besar daripada ikan uji dengan 2 *multiple site* (sampel ikan nomor 1, 3, 5, 8, dan 10) (Tabel. 6).

Terlihat pada tabel 6 bahwa ikan dengan 3 pita berjumlah 5 dari 10 ikan atau 50%. Ikan nomor 2, 4, 6, dan 7 berkelamin jantan sementara ikan nomor 9 berkelamin betina. Kelima ikan menunjukkan perbedaan berat relatif lebih besar namun ditemukan bahwa ada 2 pita dari ikan uji nomor 3 yang memiliki berat lebih besar dari ikan yang memiliki 3 pita (Tabel 6.). Sebaliknya ikan nomor 8 memiliki berat relatif ringan

dibanding ikan lainnya namun masih di atas berat ikan kontrol. Hal tersebut disebabkan tidak semua gen GH lele dumbo yang tersisipi di ekspresi oleh setiap jaringan tubuh sel ikan inang. Jaringan yang mengekspresikan bisa di jaringan yang berbeda-beda. Pada kasus tertentu (ikan nomor 3) semakin sedikit jumlah copy, level ekspresi meningkat. Pada umumnya dengan jumlah *copy* yang banyak maka level ekspresi lebih besar, seperti yang terjadi pada ikan nomor 4, 6, dan 9.

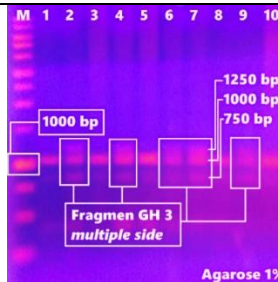
Terpacunya pertumbuhan ikan terlihat dari pembandingnya dengan kontrol. Ikan

nomor 8 (800g) menunjukkan 240g lebih berat dari kontrol (560g), meningkat 42,86%. Padahal ikan kontrol sudah lebih tua 3 bulan dari ikan nomor 8 yang seharusnya memiliki berat lebih besar. Ikan nomor 4 (1240g) 680g lebih berat dari ikan pembanding (560g), meningkat 121,43% yaitu 2,2 kali dari ikan pembanding. Ikan pembanding juga lebih tua 1 bulan namun tidak lebih berat dari ikan nomor 4. Fakta ini menunjukkan bahwa terpacunya pertumbuhan ikan akibat sisipan gen GH lele dumbo.

Tabel 6. Korelasi Berat dan Jumlah Pita Ikan Uji F1 MTMNT

Ikan ke-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	K
Berat (g)	1000	1000	1320	1240	1040	1200	1060	800	1120	880	560
Menetas	22/2/16										5/1/16
Isolasi	27/3/17					27/1/17					27/3/17
Umur (bulan)	13	13	13	13	13	13	13	11	12	13	14

Hasil PCR



Tabel 7. Korelasi Berat dan Jumlah Pita Ikan Uji F1 MTS

Ikan ke-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	K
Berat (g)	1050	1280	1000	1280	1000	1050	530	1060	560	960	560
Menetas	5/1/16										5/1/16
Isolasi	27/3/17					23/4/17					27/3/17
Umur (bulan)	14	14	14	14	14	15	15	15	15	15	14

Hasil PCR



Pada ikan F1 MTS nomor 7 yang memiliki berat hampir sama dengan kontrol (Tabel 7.). Ikan nomor 7 dan 9 memiliki berat paling ringan yaitu sebesar 530g dan 560g namun memiliki 1 pita di 1000bp yang termasuk lele transgenik. Ikan nomor 7 maupun 9 dimungkinkan gen GH pada ikan tersebut menyisip di daerah intron, karena intron bukan *coding region* maka tidak di sandi menjadi produk akhir hormon pertumbuhan sehingga hampir tidak ada tanda terpacunya pertumbuhan sehingga berat tubuhnya relatif sama dengan kontrol. Maka

tidak semua ikan yang tersisipi gen GH lele dumbo terjadi perpacuan pertumbuhan. Ikan terberat adalah ikan nomor 2 dan 4 dengan berat 1280g yaitu 720g lebih berat dari kontrol (560g). Ikan tumbuh 128,57% lebih berat atau 2,3 kali lebih berat dari kontrol. Ikan nomor 2, 4, dan kontrol memiliki umur yang sebaya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa 50% ikan uji F1 MTMNT (10 dari 20 sampel) dan 50% ikan uji F1 MTS (10 dari 20 sampel) teridentifikasi sebagai ikan lele mutiara transgenik.

DAFTAR PUSTAKA

- Buwono, I. D., Iskandar, M. U. K. Agung, dan U. Subhan. 2016. *Produksi Larva Ikan Lele Lokal (Clarias batrachus) Transgenik dengan Teknik Elektroforasi Sperma untuk Introduksi Budidaya di Waduk Cirata*. Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) Tahun ke-2 dari Rencana 2 Tahun. LPPM Unpad. 76 hlm.
- Buwono, I. D., Iskandar, M. U. K. Agung, dan U. Subhan. 2016. *Perakitan Ikan Lele (Clarias sp) Transgenik dengan Teknik Elektroporasi Sperma*. Jurnal Biologi 20 (1) : 17-28.
- Buwono, I. D. dan Rosidah. 2010. *Uji Sensitifitas Metode One Step dan Nested PCR Terhadap Deteksi Penyakit KHV pada Ikan Mas (Cyprinus carpio)*. Lembaga Penelitian dan Pengembangan Masyarakat Universitas Padjadjaran. 51 hlm.
- Fatchiyah. 2005. *Polymerase Chain Reaction: Dasar Teknik Amplifikasi DNA*. <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id/teaching-responsibility/general/bbbb/>. Diakses pada 09.30 25 Juli 2017.
- Habibullah, S. A., Z. Nasution, Yunasfi, dan H. Marnis. 2015. *Transmisi Transgen (PhGH) dan Performa Pertumbuhan Ikan Lele (Clarias gariepinus) Transgenik F-3*. Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Sukamandi, Subang.
- Hasibuan, E. 2015. *Peranan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Terhadap Perkembangan Ilmu Pengetahuan*. Karya Tulis Ilmiah. Pranata Laboratorium Perguruan Tinggi. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Iswanto, B., Imron, H. Marnis, dan R. Suprpto. 2014. *Petunjuk Teknis Budidaya Ikan Lele Mutiara*. Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Sukamandi, Subang.
- Iswanto, B., Imron, H. Marnis, dan R. Suprpto. 2014. *Naskah Akademik Ikan Lele Tumbuh Cepat Hasil Seleksi Individu*. Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Sukamandi, Subang.
- Lathifah, A. U. 2016. *Deteksi keragaman genotip hibrid ikan lele sangkuriang, mutiara transgenik dan mutiara non transgenik pada keturunan pertama*. Skripsi. Program Studi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Marnis, H., B. Iswanto, R. Suprpto, Imron, dan R. R. S. P. S. Dewi. 2015. *Pertumbuhan dan Sigositas Ikan Lele Afrika (Clarias gariepinus) Transgenik F-2 yang Membawa Gen Hormon Pertumbuhan Ikan Patin Siam (Pangasianodon hypophthalmus)*. Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Sukamandi, Subang.
- Zhang, M. C., C. Chen, Y. Guo., J. Guo, and X. Wang. 2009. *Cloning and Sequence Analysis of Full-length Growth Hormone cDNA from Clarias gariepinus*. Acta Agricultural Boreali Sinical. Vol 6. Hlm. 1-6.